桃花粉活力快速檢測技術之建立

農試所遺傳生技組 蔡媢婷 莊淨 黃群哲 游舜期 夏奇鈮

一、前言

桃【*Prunus persica* (L.) Batsch】為多年生落葉果樹，臺灣平地至高山皆可種植，品種具多樣化、果實外觀差異亦大，為極具特色之水果。根據農業部之統計資料，民國112年臺灣桃之栽培面積為1,939公頃，產量為17,302公噸，產區集中於中部地區，是國內重要的果樹之一。值得一提的是臺灣是世界上桃產區緯度最低的地區之一，因此臺灣的桃果樹育種有其特殊地位。

桃一般被歸類為自交作物，但根據自交之結果率可將桃分為四個族群，結果率為0%之完全自交不稔 (self sterility)、結果率小於10%之部分自交不稔 (partial self sterility)、結果率為10-20%之自交可稔 (self fertility)、以及結果率大於20%之高自交可稔 (high self fertility)，大多數之品種皆屬於後二個族群。前二個族群除了可能因雌蕊不正常導致結實率低之外，最大原因為無法產生正常之花粉，導致自花授粉率極低，在商業栽培時，則需要配合具有高活力花粉之品種作為授粉樹以提高著果率。有研究指出，具有較高體外 (*in vitro*) 花粉發芽率(即，花粉活力較高)的桃品種，其結果率也較高。對於育種者而言，若僅能藉由觀察結果率來判斷其稔性，需要耗費之時間成本相當可觀。因此若能直接了解不同品種(系)之花粉活力，則不僅有助於結果率之預測及作為選擇授粉樹之參考，更能做為雜交育種花粉親選擇之依據，提升有助於育種效率。

二、花粉活力檢測技術

傳統檢測花粉活力的方法有體內 (*in vivo*) 授粉、體外 (*in vitro*) 發芽培養、花粉活力染色等，上述方法之過程相當耗時且不易進行大量檢測，再加上人為判定標準的差異，在操作與判別上皆須訓練有素之人員為之。近年來對於花粉研究有新的利器，亦即利用電阻抗式流式細胞儀 (impedance flow cytometry, IFC)，其原理基於以不同的交流電 (alternating current, AC) 頻率辨識細胞大小、形狀及膜之完整性，一般利用低頻率可以檢測

作　　者：蔡媢婷聘用研究員
連絡電話：04-23317315

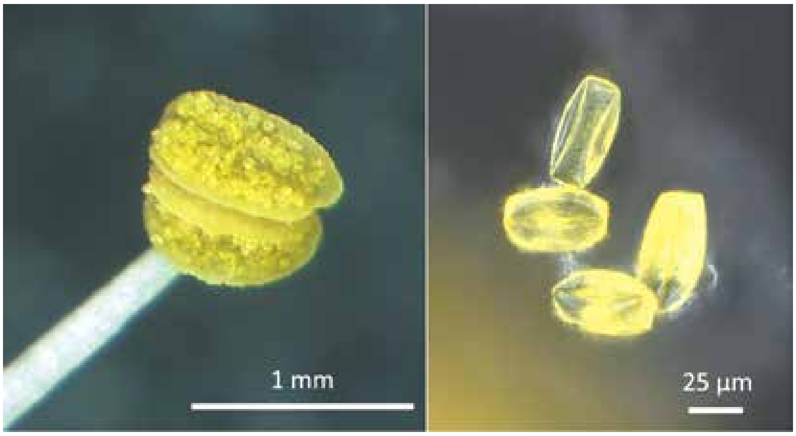
DOI：10.30248/TSQBTARI.202512_(144).0004

出細胞大小和數量，較高頻率則可以檢測細胞質內之變化。IFC則依此原理，設計具有電極通道之晶片，當細胞經過通道之電場時細胞膜會產生電阻之變化，不同活力細胞之細胞膜產生的電阻不同，利用這個特性可以分辨花粉的活力，並在短時間內進行大量檢測。過去農試所利用IFC已建立蝴蝶蘭及文心蘭之花粉活力檢測技術，並證明此技術所檢測之花粉活力率與傳統染色法之檢測結果極為相近，具有參考價值。利用此技術已分別建立蝴蝶蘭及文心蘭品種之花粉活力資料庫，做為育種父本選擇之參考，在提高授粉成功率方面有極大成效，尤其是品種間花粉活力差異極大之文心蘭。因此擬將此技術延伸利用於桃花粉之活力檢測，藉以作為育種之參考。

三、以IFC建立桃花粉活力檢測技術之過程

IFC檢測結果之正確性受許多因子之影響，而每一作物花粉之大小、形態等外觀形態及生理特性不同，因此必需針對各種作物建立適合之檢測技術，無法以一套標準流程直接利用於所有作物。在以IFC建立桃花粉活力檢測技術前，首先需對桃花粉的大小加以調查，作為選擇IFC檢測參數及晶片孔道寬度之依據。桃之花粉為具有三條溝之長柱形構造，短軸稱為赤道軸(equatorial axis)、長軸稱為極軸(polar axis)，不同品種花粉之大小和長短軸比值略有差異。以桃 '台農7號-紅鈴' 為例，經高倍率數位顯微鏡(Keyence VHX-X1)觀測，顯示其長軸約為70 μm，短軸約為30 μm (圖一)，為避免大量花粉於短時間內通過晶片孔道造成阻塞而影響檢測效率，因此選擇具250 μm孔道之晶片進行檢測。

利用10個品種(系)作為建立IFC檢測參數之樣本，比較之參數分別為依照原廠說明書建議之二套參數A與B，以及本團隊以往檢測其他作物經驗所使用之參數C、D、E進行測試，並以花粉檢測之拒絕率(rejected rate)作為判斷參數優劣之依據。一般使用不同參數時，以拒絕率愈低者為佳，本研究之結果顯示多數品種(系)以D組參數有最低之拒絕率，僅 '鶯歌桃' 以E組參數可得最低之拒絕率(表一)。此外，相同樣品可檢測到之花粉數量亦受參數影響，在所有參試品種(系)



圖一、桃 '台農7號-紅鈴' 花藥(A)及花粉(B)形態。

DOI：10.30248/TSQBTARI.202512_(144).0004

中以D或E組參數可測得較多之花粉數(表二)，但是以E組參數檢測時在10個品種(系)中有6個品種(系)會出現錯誤異常的偵測點圖(表一和二)，顯示其數據較不可信賴。以 '鶯歌桃' 及 '台農10號-珍翠' 為例，前者以E組參數檢測時，花粉呈現不同大小(Y軸)及活力(X軸)之分布(圖二A)，符合細胞群間具有差異性之生物特性，故圖形較具信賴度。而後者之點圖顯示所有花粉皆具有相同之活力(圖二B)，無法顯示不同花粉之活力差異性，故為不可信賴之圖形。綜合以上結果，選擇以D組做為桃花粉IFC檢測使用之參數。鑑於不同品種(系)最適合參數略有差異，故每一品種(系)若於檢測結果不盡理想時，仍需進行參數微調，例如 '鶯歌桃' 則以E組參數較適合。

利用以上參數，以臺灣平地及低海拔地區主要栽培品種—桃 '台農7號-紅鈴' 為模式品種，將其花朵之發育程度分為6個階段(圖三A)，每階段取3朵花，檢測其平均花粉活力，並計算平均每朵花可測得之花粉數量，同一批花粉亦以 TTC (2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride) 於室溫染色1小時後，於光學顯微鏡下計算其染色率。結果顯示已開放之花朵(第6階段)因花藥已開裂而喪失部分花粉，可測得之花粉數顯著減少，其

表一、桃不同品種(系)花粉以IFC不同參數檢測之拒絕率

品種(系)	拒絕率 Rejected rate (%)				
參數代號	A	B	C	D	E
'台農2號-夏蜜'	8.3	10.0	6.0	3.6	5.0*
'台農10號-珍翠'	9.7	7.4	6.1	4.0	6.8*
'苦桃'	7.8	12.0	7.3	3.6	7.7*
'鶯歌桃'	9.8	9.2	4.6	3.8	2.8
P00-25	11.0	7.8	4.6	3.5	5.6
P97-23	8.1	9.1	4.8	4.7	4.7
P97-48Y	8.0	10.0	5.0	2.9	4.3*
P97-76Y	12.0	6.7	3.2	2.3	3.5*
P99-65	13.0	8.8	4.3	4.7	5.2*
TropicBeauty	10.0	8.7	5.6	2.3	5.4

*：檢測點圖出現不可信賴之圖形

表二、桃不同品種(系)花粉以IFC不同參數檢測之可接受數量

品種(系)	可接受數 (Accepted number)				
參數代號	A	B	C	D	E
'台農2號-夏蜜'	99	1140	2119	2201	2246*
'台農10號-珍翠'	315	1519	2144	2432	2138*
'苦桃'	153	1037	1393	1622	1977*
'鶯歌桃'	378	1522	2575	2857	2451
P00-25	664	2634	3293	3801	3512
P97-23	443	1529	2200	2241	2406
P97-48Y	518	2046	2628	3100	3823*
P97-76Y	395	2098	2409	2849	2929*
P99-65	250	1230	1679	1930	2891*
TropicBeauty	281	1588	1829	2278	2552

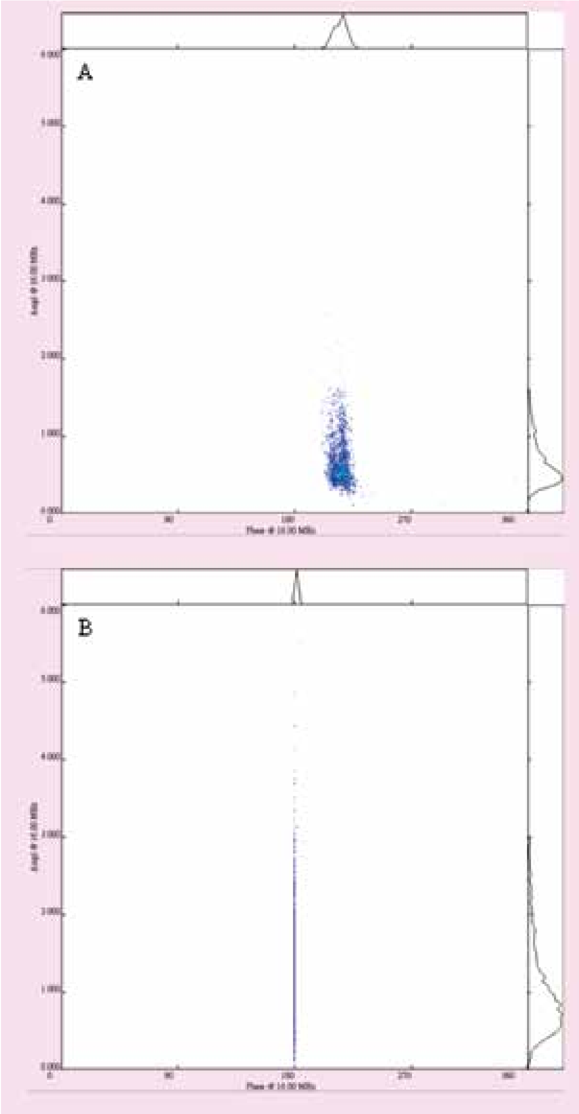
*：檢測點圖出現不可信賴之圖形

表三、桃花粉活力檢測法比較

檢測法	檢測需時	計算數量	計算方式	結果受人為影響
IFC	30分鐘內	多(數萬粒)	儀器電腦	小
TTC染色	2小時以上	少(百-千粒)	人工計數	大

DOI：10.30248/TSQBTARI.202512_(144).0004

它5個階段皆可測得大量花粉。至於花粉活力，除了第6階段在二種檢測法之結果相近之外，其餘第1-5階段皆以IFC檢測之活力高於染色法。則IFC檢測以第4與第5階段(即將開放之大花苞與花瓣略開裂)之花粉具有較高之IFC活力，而TTC檢測法則以第5階段之染色率最高，花朵開放後二種檢測法之花粉活力皆亦急速降低(圖三B)。因此，之後桃花粉活力檢測宜選擇即將開放前之花朵(第4、5階段)為材料。值得注意的是，第1-2階段之TTC染色率遠低於IFC檢測法，甚至在第1 階段時染色率為0%，顯示染色法不適用於花粉發育早期之活力檢測。



圖二、桃 '鶯歌桃 '(A)及 '台農10號-珍翠 '品種(B)花粉以E參數進行檢測之點圖。

依據以上資訊並參考本研究團隊以往之經驗選擇適當之緩衝液、篩網及晶片等，建立桃花粉IFC檢測技術之流程(圖四)。

四、結語

雖然IFC檢測技術之建立需要耗費一些時間，但是技術建立後可於30分鐘內完成數萬個細胞活力之檢測，相較於傳統之染色或發芽法，可大幅降低人力及時間成本(表三)，並可快速提供育種者即時之花粉活力及花粉產量之資訊，對於有授粉需求之作物，可作為選擇花粉親或評估結果率之依據。農試所位於霧峰平地之桃種原保存園目前收集約有250個品種(系)，將以此技術建立桃種原之花粉活力資料庫，可作為桃育種時選擇花粉親之參考。另外，本技術亦可延伸應用於不同溫度處理後花粉活力變化之檢測，比較不同品種花粉之耐溫特性，對於未來國內選育耐熱性桃品種對抗全球暖化之目標將可助一臂之力。

五、參考文獻

農業部. 2025. 農業統計資料https://agrstat.moa.gov.tw/sdweb/public/inquiry/InquireAdvance.aspx

DOI：10.30248/TSQBTARI.202512_(144).0004

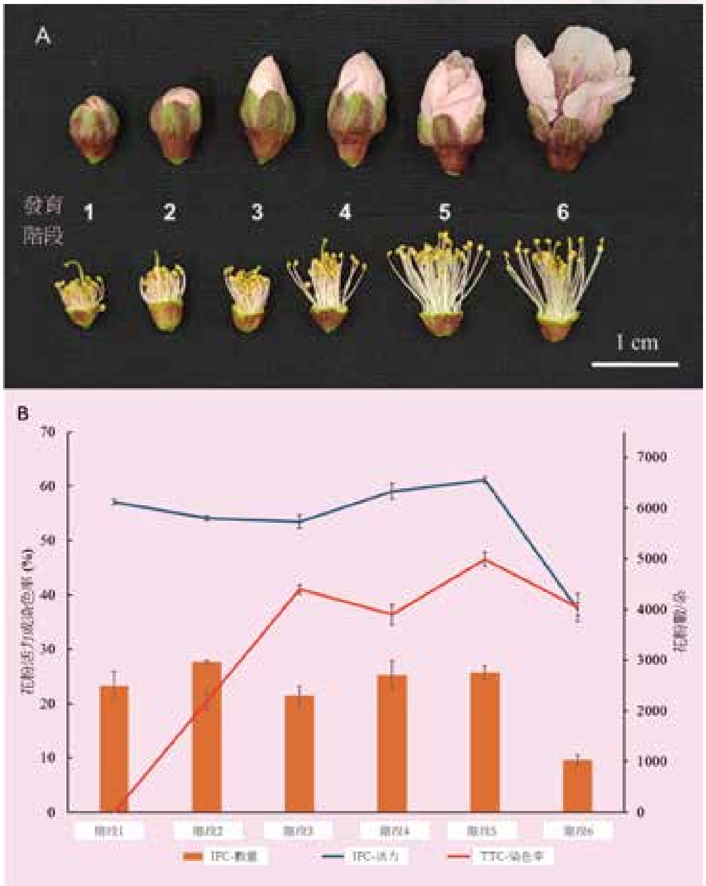
Barbieri, C. R., and G. A. Nava. 2020. Production and in vitro viability of pollen of peach trees grown in subtropical climate. Rev. Bras. Frutic. 42 (3).

Heidmann, I., G. Schade-Kampmann, J. Lambalk, M. Ottiger, and M. Di Berardino. 2016. Impedance flow cytometry: An novel technique in pollen analysis. PLoS One. 11(11):1-15.

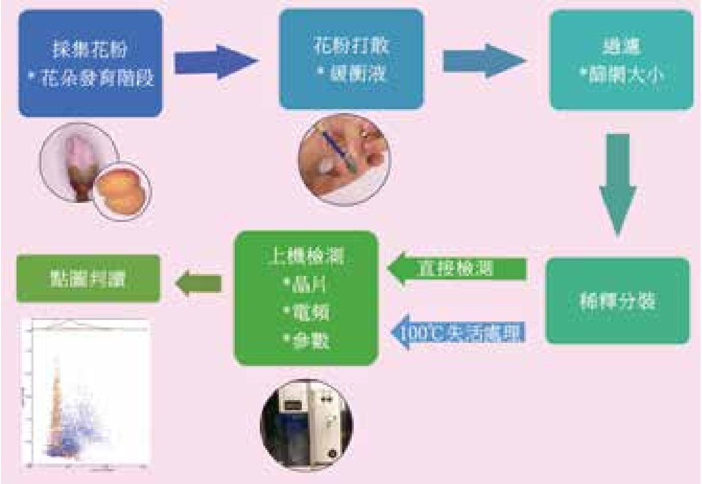
Milatovi , D., D. Nikoli , and A. Radovi . 2022. Morphological characterisation of peach pollen grains using scanning electron microscopy. Acta Hort. 1352(44):327-332.

Sharma, C. M. 1984. Flowering and fruiting behaviour, in vitro germination and viability of pollen grains of some commercial peach cultivars. Indian J. Hort. 41:225-229.

Szabó Z. and J. Nyéki, 1999. Self pollination in peach. Intl. J. Hort. Sci. 5(3-4):76-78.



圖三、桃 ' 台農7號-紅鈴 '不同發育階段之花朵(A)、花粉以IFC測得之數量與活力及TTC染色之活力(B)。誤差線為平均值標準差(n = 3)。



圖四、利用電阻抗流式細胞儀(IFC)檢測濤花粉活力之流程。*影響檢測結果之主要因子。

DOI：10.30248/TSQBTARI.202512_(144).0004